

**AUTORADIOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN
ZUR WIRKUNG VON PHENOBARBITAL
AUF DIE LEBERZELLPROLIFERATION
NACH PARTIELLER HEPATEKTOMIE**

Walter Skoruppa

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546706_0047

AUS DEM PATHOLOGISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT
MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. M. Eder

AUTORADIOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR WIRKUNG VON
PHENOBARBITAL AUF DIE LEBERZELLPROLIFERATION
NACH PARTIELLER HEPATEKTOMIE



Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig - Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von
Walter Skoruppa
aus Moosburg

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München.

Referent: Professor Dr. Hartmut Rabes

Correferent: Professor Dr. Max Eder

Dekan: Professor Dr. Wolfgang Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 19.12.1975



Herrn Professor Dr. med. H. M. Rabes danke ich für
die Themenstellung und die freundliche Bereitstellung
der histologischen Präparate.

Herrn Dr. med. H. - V. Tuzek danke ich für die Ein-
führung in die Technik der mikroskopischen Auswertung
des Versuches und die hilfreiche Unterstützung bei der
vorliegenden Arbeit.

Inhaltsverzeichnis

Seite

1	TEIL I: Autoradiographische Untersuchungen zur Wirkung von Phenobarbital auf die Leber- zellproliferation nach partieller Hepatektomie
	Einleitung
7	Versuchsanordnung
11	Ergebnisse
22	Diskussion
27	TEIL II : Die intralobuläre Lokalisation ^3H - TdR - markierter Hepatocyten 22 h nach par- tieller Resektion der Leber bei Pheno- barbital - behandelten Ratten
	Einleitung
28	Versuchsanordnung
29	Ergebnisse und Diskussion
34	Zusammenfassung
37	Literaturverzeichnis

Vorbemerkung

Im Britischen Museum in London wird ein aus Ton geformtes Lebermodell aufbewahrt, das 2000 Jahre vor Christus babylonischen Priesterschülern dazu diente, die Kunst der Leberschau zu erlernen. Keilschrifttexte aus der selben Epoche belegen den Einfluß der Leberschau auf das staatliche und private Leben der Babylonier und Assyrer, die in der Leber den Ursprung der Gefühle und Gedanken vermuteten. Auch in der griechischen Mythologie galt die Leber als Sitz der Gefühle. Prometheus hatte den Menschen das Feuer geschenkt und dadurch den Zorn der Götter heraufbeschworen. Zur Strafe dafür ließ Zeus ihn an einen Felsen des Kaukasus schmieden und sandte ihm einen Adler, der täglich an seiner Leber zehren durfte, die sich, abgeweidet, immer wieder erneuerte. In diesem Bild taucht zum erstenmal der Gedanke an eine Regeneration der Leber auf. Im Gegensatz zu den Babyloniern, Assyrern und Griechen finden sich bei den Ägyptern schon sehr früh Beobachtungen über den Bau und die Funktion der menschlichen Leber. In einem von dem Ägyptologen G. Ebers (1837 - 1898) entdeckten, um 1550 v.Chr. entstandenen Papyrus heißt es unter anderem: "Vier Gefäße ziehen zur Leber. Sie geben ihr Wasser und Luft und lassen allerlei Krankheiten in ihr entstehen durch Überfülle von Blut." (zitiert in Ignatius, 1961). Die erste überraschend genaue Beschreibung der Leber stammt wahrscheinlich von Herophilos von Chalkedon (ca. 300 - 250 v. Chr.), der bereits die fundamentale Bedeutung des Pfort-

adersystems erkannt hatte.

Das eingehende Wissen um den Aufbau der Leber und ihrer Funktionen blieb jedoch den Gelehrten späterer Jahrhunderte vorbehalten. Mit der Entdeckung des Blutkreislaufes durch William Harvey (1578 - 1657), der Begründung der modernen Chemie durch Laurent Lavoisier (1743 - 1794), der Entdeckung der Zelle durch Theodor Schwann (1810 - 1882), der Zellbildungstheorie Matthias Schleydens (1804 - 1881) und anderen bahnbrechenden Erkenntnissen eröffneten sich der modernen Biologie völlig neue Aspekte, die in zahlreichen medizinischen Experimenten ihren Ausdruck fanden.

Speziell im Hinblick auf die Leberforschung sei v. Meister (1894) erwähnt, der bei Hunden, Kaninchen und Katten verschiedene Massenanteile der Leber entfernte und die Regeneration des Restparenchyms untersuchte.

Nachdem Higgins und Anderson (1931) die leicht reproduzierbare Methode der Zweidrittel - Hepatektomie beschrieben hatten und ^{als} durch die Entwicklung der autoradiographischen Technik in den letzten 20 Jahren die Kinetik der Zellproliferation bestimmt werden konnte, erschienen in neuerer Zeit viele Veröffentlichungen, die sich mit der Regeneration der Leber und ihrer Regulation befassen.

Da elektronenmikroskopische, enzymhistochemische, biochemische und pharmakologische Untersuchungsmethoden gleichzeitig weitgehende Einblicke in die Struktur und Funktion der Leberzelle ermöglichten, schien das Modell der regenerierenden Leber nach partieller Hepatektomie geeignet, die

Wirkung einer pharmakologisch induzierten Stimulation der Hepatocyten auf die Zellproliferation zu analysieren.

In der vorliegenden Arbeit wird der Einfluß von Phenobarbital auf die Leberzellproliferation nach partieller Hepatektomie untersucht.

In Teil I wird durch Bestimmung des ^3H - TdR - Markierungsindex (MI) und des Mitoseindex die Hepatocytenproliferation in der partiell resezierten Leber der Ratte nach mehrmaliger präoperativer als auch prä- und postoperativer Applikation von Phenobarbital - Na (PB) mit der Zellproliferation in teilresezierten, mit physiologischer Kochsalzlösung behandelten Kontrolltieren verglichen.

In Teil II wird die intralobuläre Verteilung ^3H - TdR - markierter Leberparenchymzellen zu einem charakteristischen Zeitabschnitt nach partieller Resektion der Leber bestimmt, um zu untersuchen, ob die Hepatocyten definierter Lobuluszonen nach Behandlung mit PB in besonderer Weise reagieren.

Teil I

1. Die Wirkung von Phenobarbital auf die normale Leber

Die mehrmalige Applikation von Phenobarbital ruft bei Ratten eine deutliche Lebervergrößerung hervor (Conney und Gilman, 1963; Remmer und Merker, 1963; Burger und Herdson, 1966; Fouts und Rogers, 1965; u.a.). Einige Autoren führen die dabei auftretende Zunahme des Lebergewichtes um 20 - 30% (Kuriyama et al., 1969; Stenger und

Johnson, 1972) ausschließlich auf die Hypertrophie der Hepatocyten zurück (Remmer und Merker, 1963; Kunz et al., 1966 a, b, c; Barka und Popper, 1967). Andere Autoren konnten darüber hinaus eine Hyperplasie der Leberzellen nachweisen (Conney und Gilman, 1963; Schulte - Hermann et al., 1968; Schlicht et al., 1967; 1968).

Zur Klärung dieser teilweise widersprüchlichen Befunde trugen die Experimente von Paulini und Mitarbeitern (1970 a, b, c; 1971 a, b, c; 1972) über die Wirkung von Phenobarbital auf die Leberzellproliferation in Abhängigkeit vom Lebensalter der Versuchstiere bei. Während junge, vier Wochen alte Ratten zusätzlich zur Zellhypertrophie eine Zellteilung einleiten können, besteht diese Möglichkeit bei zwölf Monate alten Tieren nicht mehr. Im Vergleich zu jungen Ratten, bei denen die Zunahme des Lebergewichtes mit einer signifikanten DNS- und Proteinsynthese einhergeht, findet sich bei alten Ratten nur noch eine erhöhte Proteinsynthese (Paulini et al., 1970 b; 1971 b; 1972). Eben ausgewachsene, drei Monate alte Tiere zeigten nach Behandlung mit Phenobarbital noch eine geringgradige Hyperplasie der Leberparenchymzellen, wenngleich hierbei schon die Zellhypertrophie überwiegt (Paulini und Beneke, 1970 a). Der durch Phenobarbital induzierten Hypertrophie der Zellen liegt morphologisch eine Vermehrung von Membranen insbesondere des glatten Endoplasmatischen Retikulums (SER) zugrunde (Nouts und Rogers, 1965; Jones und Armstrong, 1965; Jones und Pawcett, 1966; Kato et al., 1966; Örenius und Ericsson, 1966; Stäubli et al., 1969;

Bolender und Weibel, 1973).

Die Zunahme dieser Membranen wiederum findet ihr biochemisches Äquivalent in der Vermehrung struktureller Phospholipide (Ernster und Orrenius, 1965; Orrenius et al., 1965; Kato et al., 1965; Holtzmann und Gillette, 1968) sowie im Anstieg zahlreicher mikrosomaler Enzymaktivitäten, insbesondere dem Cytochrom P_{450} (Ernster und Orrenius, 1965; Orrenius et al., 1965; Stäubli et al., 1969; Lu et al., 1973) und seiner Komponente, dem Häm (Baron und Tephly, 1970, dessen Bildung durch die gesteigerte Synthese der δ -Aminolävulinsäure (Marver et al., 1968; Baron und Tephly, 1970) sowie der erhöhten Resorption von $Fe^{59}SO_4$ durch die Darmschleimhaut (Thomas et al., 1972) beschleunigt wird. Die Zunahme des Cytochroms P_{450} als Bestandteil der mischfunktionellen Oxydasen stimuliert den Steroidmetabolismus (Jones und Armstrong, 1965; Middleton und Isselbacher, 1969; Paulini et al., 1972) und die Biotransformation zahlreicher Pharmaka (Klaasseni, 1968; Stenger und Johnson, 1971; 1972; Spratt, 1973; Talcott und Stohs, 1973) und Gifte (McLean und McLean, 1966; Atary und Brodeur, 1969; Stenger et al., 1970; Lu et al., 1972) einschließlich der eigenen metabolischen Ausscheidung (Remmer, 1958; Conney et al., 1960 ; 1961 ; Hospador und Manthei, 1968). Auch der zweite Schritt der Biotransformation, die Kopplung an Glucuronsäure, wird durch die Phenobarbital - bedingte Induktion der Glucuronyltransferase stimuliert (Zeidenberg et al., 1967; Burchell et al., 1972; Windorfer, 1972). Der Anstieg der RNA - Polymerase - Aktivität (Gelboin et

al., 1967) und die Zunahme der RNS (Kato et al., 1965; Orrenius et al., 1965; Paulini et al., 1972; Smith et al., 1972) sprechen für eine Neusynthese der Enzyme, da ihr Anstieg nach den Untersuchungen von Orrenius und Mitarbeitern (1965) durch Aktinomycin D gehemmt wird.

Alle angeführten Beispiele zeigen, daß die Gabe von Phenobarbital eine funktionelle Belastung für die Leberzelle darstellt, die mit einer elektronenmikroskopisch nachweisbaren strukturellen Neuorientierung einhergeht.

2. Die Wirkung von Phenobarbital auf die partiell resezierte Leber

Im Gegensatz zu der ausschließlich mit Phenobarbital behandelten Leber werden die pharmakologisch stimulierten Hepatocyten durch eine zusätzliche Teilresektion der Leber vor zwei verschiedene Aufgaben gestellt. Einerseits soll durch die Proliferation des Restparenchyms der akute Verlust an funktionsfähigem Gewebe kompensiert werden. Andererseits soll die bereits reduzierte Hepatocytenpopulation zusätzlich die pharmakologisch induzierten erhöhten Anforderungen an den Zellstoffwechsel beantworten.

Die Wirkung von Phenobarbital auf die regenerierende Leber wurde bisher nur wenig untersucht (Chiesara et al., 1967; Japundžić et al., 1967; Hilton und Sartorelli, 1970; Bürki et al., 1971).

Dabei stellte sich heraus, daß für die Beurteilung des Regenerationsprozesses die Phenobarbitaldosis sowie das zeit-

liche Intervall zwischen Applikation und Zweidrittel - Hepatektomie von entscheidender Bedeutung ist. So führt: eine einzige Gabe des Pharmakons (100 mg PB / kg Körpergewicht), unmittelbar postoperativ appliziert, im Vergleich mit Kontrolltieren zu einer etwa zweistündigen Verzögerung der Inkorporation radioaktiven Jododeoxyuridins (131 JDU) in die DNS und des Anstiegs des Mitoseindex (Bürki et al., 1971; Schindler und Bürki, 1971).

Die präoperative Phenobarbitalgabe über mehrere Tage resultierte dagegen in einer Erhöhung des Mitoseindex (Japundžić et al., 1967).

Im folgenden wird der zeitliche Verlauf der Leberregeneration nach Zweidrittel - Hepatektomie speziell im Hinblick auf die Anzahl DNS - synthetisierender Parenchymzellen sowie ihrer mitotischen Aktivität nach zusätzlicher Applikation von Phenobarbital untersucht. Dabei soll geklärt werden, ob und wie die Beantwortung einer derartig erhöhten funktionellen Belastung der Hepatocyten während der G_0 - bzw. G_1 - Phase des Zellzyklus mit der Zellkinetik nach partieller Resektion interferiert.

Versuchsanordnung

I. Tiermaterial und Schema der Phenobarbitalapplikation

130 männliche, im Mittel $226,9 \pm 6,9$ g (Standardabweichung)

schwere Wistarratten AF / Han aus eigener Zucht erhielten Wasser und Altromin^R - Standarddiät ad libitum.

Es erfolgte eine Einteilung in 4 Versuchsgruppen A, B, C, D. Gruppe A (n = 37) erhielt an 5 aufeinanderfolgenden Tagen zwischen 9²⁰ Uhr und 10 Uhr je 1 intraperitoneale Injektion von 90 mg /kg Körpergewicht Phenobarbital - Na (PB; Merck/Darmstadt) in 0,15 m NaCl - Lösung, die 45 mg PB / ml enthielt. Die 5. Injektion erfolgte 10 h vor der Zweidrittel - Hepatektomie, die nach der Methode von Higgins und Anderson (1931) in Äthernarkose durchgeführt wurde. Postoperativ wurde diesen Tieren alle 12 h 0,40 - 0,46 ml 0,15 m NaCl - Lösung i.p. injiziert.

Gruppe B (n = 39) erhielt die entsprechende PB -Dosis wie Gruppe A, die 5. Injektion jedoch unmittelbar nach der Zweidrittel - Hepatektomie, und während der Regenerationszeit alle 12 h entsprechend der Zweidrittel - Resektion ein Drittel der ursprünglichen PB - Dosis.

Gruppe C (n = 38) diente als Kontrollgruppe. Sie erhielt während des gesamten Versuchsablaufes die entsprechenden Volumina physiologische NaCl - Lösung.

Gruppe D (n= 10): Zur Untersuchung der Wirkung von PB auf die nicht teilresezierte Leber bekamen

5 Ratten PB - Lösung der gleichen Menge (entsprechend

Gruppe A 90 mg / kg KG) und

5 Ratten die entsprechenden Volumina physiologische NaCl-

Lösung i.p. injiziert. Alle Tiere dieser Gruppe wurden 24 h nach der letzten PB - bzw. NaCl - Injektion getötet.

II. Das Verhalten der Tiergewichte während der Versuchszeit

Um einen eventuellen Einfluß der schlafinduzierenden Wirkung von PB auf die Nahrungsaufnahme der Versuchstiere und eine damit möglicherweise verbundene Veränderung des Proliferationsstoffwechsels der Leber nachzuweisen oder auszuschließen, wurden die Ratten jeden Tag gewogen.

III. Berücksichtigung des Tagesrhythmus

Um den Einfluß endogener circadianer Rhythmen der Tiere auf den Versuchsablauf gering zu halten, erfolgten die 1., 2. und 3. PB - bzw. NaCl - Injektion zwischen 9 Uhr und 10 Uhr. Da der Zeitpunkt der 5. Applikation bei konstanter Markierungs- bzw. Tötungszeit mit der Regenerationsdauer variierte, wurde die 4. Injektion so gelegt, daß ihre zeitliche Differenz zur 3. und 5. Gabe gleich war.

IV. Autoradiographische Technik

Zu verschiedenen Zeiten nach partieller Hepatektomie (12 h, 22h, 26h, 30h, 36h, 42h, 48h) wurde jeweils 4 bis 5 Tieren der einzelnen Versuchsgruppen $0,8 \mu\text{C} / \text{g Körpergewicht}$ ^3H - Thymindesoxyribose (^3H - Tdr) der spezifischen Aktivität $5,0 \text{ C} / \text{mm}$ (Radiochemical Centre Amersham)

in 0,8 - 0,9 ml physiologischer NaCl - Lösung i.p. injiziert.

Die Tötung erfolgte 1h später durch Nackenschlag zwischen 9 Uhr und 11³⁰ Uhr.

Da die Dauer der S - Phase in der regenerierenden Leber zu 7,5 - 8,5h bestimmt wurde (Looney, 1960; Looney et al., 1960; Edwards und Koch, 1964; Fabrikant, 1964; 1968 ; Stöcker, 1966; Rabes et al., 1972), erfolgte die Wahl der Versuchszeitpunkte in 4 - 6 - stündigen Intervallen, um alle Parenchymzellen des Kompartimentes DNS - synthetisierender Hepatocyten erfassen zu können.

V. Anfertigung der Autoradiogramme

Von den entnommenen, in 10% - iger Formalinlösung unter Zusatz von inaktivem Thymidin 1 mg / 10ml fixierten Lebern wurden nach Paraffineinbettung 3 - 4 μ m dicke Schnitte angefertigt. Nach zweimaligem Wässern (je 60min) in Aqua dest. gleichen Thymidingehaltes erfolgte die Anfertigung der Autoradiogramme mit Emulsion K₂, Ilford (Expositionszeit 21 Tage bei 4° C; Entwicklungsdauer 12min bei 21° C). Die entparaffinierten Präparate wurden anschließend 12min mit Hämalaun und 15sec mit Eosin gefärbt.

VI. Auswertung der Autoradiogramme

Bei 1125 - facher Vergrößerung (Objektiv 90x, Tubusfaktor

1,25%, Großfeldokular 10x) wurden nach verschieden langer Regenerationszeit für jeweils 4 - 5 Tiere der einzelnen Versuchsgruppen die ^3H - TdR - Markierungsindices (Zahl der radioaktiv markierten Hepatocyten pro Gesamtzellzahl in Prozent) und die Mitoseindices (Zahl der in der späten Prophase bis frühen Telophase befindlichen Hepatocyten pro Gesamtzellzahl in Promille) durch Auszählen von 5 x 1000 Hepatocyten pro Tier in mäanderförmigem Zählgang bestimmt. Mit Hilfe einer Olivetti Programma 101 wurden

die Mittelwerte nach
$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_i + \dots + x_n}{n},$$

die Standardabweichung nach
$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$
 und

der mittlere Fehler des Mittelwertes nach
$$\bar{s} = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

berechnet.

$x_1 \dots x_i \dots x_n$	=	Meßwert je 1000 Hepatocyten
$\bar{x}$	=	Mittelwert
n	=	Gesamtzahl der Messungen

Ergebnisse

1. Der ^3H - TdR - Markierungsindex nach partieller Resektion der Leber und Applikation von Phenobarbital

Nach einer postoperativen Latenzphase von 18h war bei den Versuchsgruppen A, B und C eine deutliche Zunahme der ^3H - TdR - Markierung zu beobachten.

Die maximale Proliferationsaktivität wurde in allen drei Gruppen nach 22h¹ erreicht. Der Anteil DNS - synthetisierender Hepatocyten betrug in der Gruppe A rund 36% und in der Gruppe B 30%, während der Markierungsindex für die Kontrollgruppe C bei nur 18,50% lag.

Im Vergleich zum 22 - Stunden - Wert hatten die Markierungsindices der Gruppen A und B bereits nach weiteren 4h stark abgenommen. Der Prozentsatz markierter Hepatocyten in der Kontrollgruppe war jedoch zu diesem Zeitpunkt nicht wesentlich reduziert.

Nach 30 - stündiger Regenerationszeit sank der Markierungsindex besonders bei den Tieren der Gruppe B weiter ab. Zu späteren Zeitpunkten waren zwischen den einzelnen Gruppen keine großen Unterschiede mehr festzustellen.

In der Tabelle I sind die zu verschiedenen postoperativen Zeitpunkten gemessenen Mittelwerte der drei Gruppen mit ihrer Standardabweichung und dem mittleren Fehler des Mittelwertes zusammengefaßt.

Zur besseren Übersicht sind die Markierungsindices der drei Gruppen in der Abbildung 1 in Abhängigkeit von der postoperativen Untersuchungszeit dargestellt.

1, Die Zeitangaben beziehen sich auf den Zeitpunkt der ^3H - TdR - Injektion

Tabelle I : Prozentsatz ^3H - TdR - markierter Hepatocytenkerne
nach partieller Resektion der Leber und Applikation
von Phenobarbital (PB)

Regenera- tionszeit	Tiere (n)	Mittelwert ($\bar{x}$)	Standard-	mittlerer Fehler
		in %	abweichung des Mittelwertes($\bar{s}$)	
			in %	in %
Gruppe A				
12 h	5	0,21	0,20	0,00
18 h	5	3,32	3,12	0,62
22 h	4	36,10	13,42	3,00
26 h	5	19,92	3,55	0,70
30 h	5	15,08	3,48	0,69
36 h	5	11,05	2,32	0,45
42 h	4	6,93	4,31	0,96
48 h	4	7,90	2,49	0,55
Gruppe B				
12 h	5	0,11	0,10	0,00
18 h	5	7,82	4,41	0,87
22 h	5	30,18	6,87	1,37
26 h	5	12,97	8,94	1,78
30 h	4	6,40	4,67	1,04
36 h	5	10,57	3,57	0,71
42 h	5	10,41	5,68	1,13
48 h	5	4,41	3,83	0,76

Regenera- tionszeit	Anzahl der Tiere (n)	Mittelwert $\bar{x}$ in %	Standard- abweichung $\bar{s}$ in %	mittlerer Fehler des Mittelwertes in %
------------------------	-------------------------	---------------------------------	--	--

Kontrollgruppe C

12 h	4	0,06	0,00	0,00
18 h	5	5,43	5,75	1,14
22 h	5	18,50	6,60	1,31
26 h	5	16,58	9,08	1,81
30 h	5	16,10	4,94	0,98
36 h	4	10,56	2,21	0,48
42 h	5	12,75	2,29	0,45
48 h	5	7,24	2,36	0,46

=====

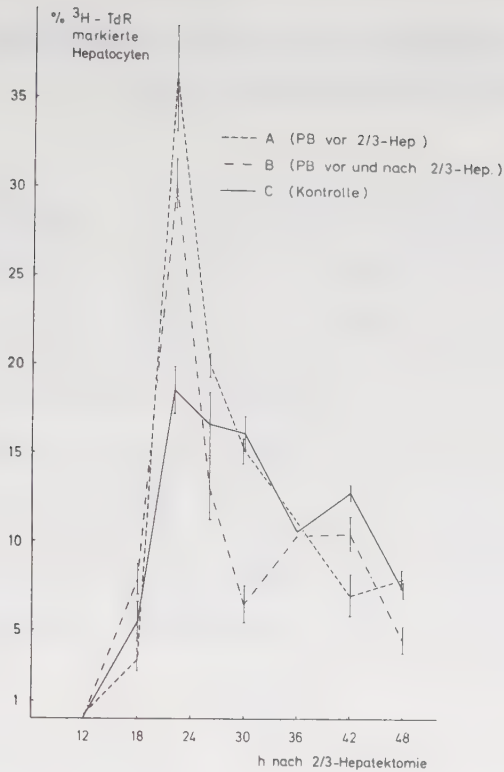


Abb. 1: Prozentsatz ^3H - TdR - markierter Hepatocytenkerne nach partieller Resektion der Leber und Applikation von Phenobarbital in Abhängigkeit von der postoperativen Regenerationszeit.

Gruppe A : präoperative Applikation von PB

Gruppe B : prä- und postoperative Applikation von PB

Gruppe C : Kontrollgruppe

Vertikale: mittlerer Fehler des Mittelwertes

2. Der Mitoseindex nach partieller Resektion der Leber und Applikation von Phenobarbital

Im Gegensatz zum Verhalten der ^3H - TdR - Markierungsindices lassen sich in dieser Versuchsanordnung keine entscheidenden Differenzen der Mitoseindices zwischen den drei unterschiedlich behandelten Gruppen nachweisen. Die Mitosemaxima treten 6 - 8 Stunden später als die höchsten Werte der ^3H - TdR - Markierungsindices in Erscheinung.

In der Tabelle II werden die zu verschiedenen postoperativen Zeitpunkten gemessenen Mittelwerte der drei Gruppen mit ihrem mittleren Fehler des Mittelwertes zusammengefaßt. In Abbildung 2 sind die Mitoseindices der drei Gruppen in Abhängigkeit von der postoperativen Untersuchungszeit dargestellt.

Tabelle II : Der Mitoseindex nach partieller Resektion der
Leber und Applikation von Phenobarbital (PB)

Regenera- tionszeit	Anzahl der Tiere (n)	Mittelwert ($\bar{x}$) in %	mittlerer Fehler des Mittelwertes ($\bar{s}$) in %
------------------------	-------------------------	----------------------------------	--

Gruppe A

12 h	5	0,00	0,00
18 h	5	0,04	0,00
22 h	4	0,70	0,20
26 h	5	35,28	5,60
30 h	5	33,90	3,69
36 h	5	22,96	2,10
42 h	5	25,18	1,00
48 h	4	14,58	1,52

Gruppe B

12 h	5	0,20	0,00
18 h	5	0,04	0,00
22 h	5	2,66	0,51
26 h	5	37,62	3,11
30 h	4	37,19	3,59
36 h	5	17,99	1,93
42 h	5	19,49	1,42
48 h	5	22,43	1,44

Regenera- tionszeit	Anzahl der Tiere (n)	Mittelwert ($\bar{x}$) in ‰	mittlerer Fehler des Mittelwertes ($\bar{s}$) in ‰
------------------------	-----------------------------	----------------------------------	--

Kontrollgruppe C

12 h	4	0,00	0,00
18 h	5	0,00	0,00
22 h	5	0,43	0,14
26 h	5	34,15	4,10
30 h	5	42,45	2,39
36 h	4	22,08	1,77
42 h	5	32,62	1,30
48 h	5	18,27	1,37

=====

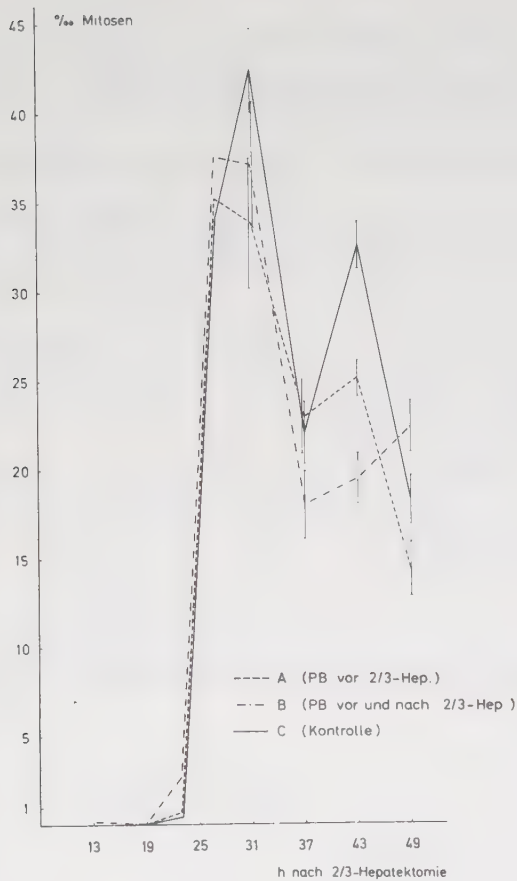


Abb. 2 : Mitoseindex nach partieller Resektion der Leber
und Applikation von Phenobarbital in Abhängigkeit
von der postoperativen Regenerationszeit.
Gruppe A : Präoperative Applikation von PB
Gruppe B : prä- und postop. Applikation von PB
Gruppe C : Kontrollgruppe
Vertikale: mittlerer Fehler des Mittelwertes

3. Der ^3H - TdR - Markierungs- und Mitoseindex in der nicht partiell resezierten Leber nach Applikation von Phenobarbital

Der Markierungsindex für die Tiere der Gruppe D, die 1B erhalten hatten, betrug 24h nach der letzten Injektion

$0,43 \pm 0,24\%$ (Standardabweichung) und der Mitoseindex

$0,35 \pm 0,70\%$.

Die nur mit physiol. NaCl - Lösung behandelten Ratten wiesen einen Markierungsindex von $0,28 \pm 0,20\%$ und einen Mitoseindex von $0,88 \pm 1,16\%$ auf.

Nach dem Student - t - Test ergab sich für den Markierungsindex mit $p < 0,025$ und den Mitoseindex mit $p < 0,05$ nur eine geringe Signifikanz.

4. Das Verhalten der Tiergewichte während der Versuchszeit

In der Abbildung 3 sind die Tiergewichte der unterschiedlich behandelten Gruppen während der gesamten Versuchszeit in Prozent des Ausgangsgewichtes dargestellt. Zusätzlich werden durch Pfeile die Zeitpunkte der i.p. Injektionen von PB - bzw. NaCl - Lösung angegeben.

12 - 24h nach der Operation hatte das Körpergewicht der Tiere aller Gruppen auf 92 - 95% des Ausgangsgewichtes abgenommen und war 36h post op. wiederum auf etwa 97% angestiegen. Ein Einfluß der PB-Injektionen auf das Körpergewicht konnte nicht nachgewiesen werden.

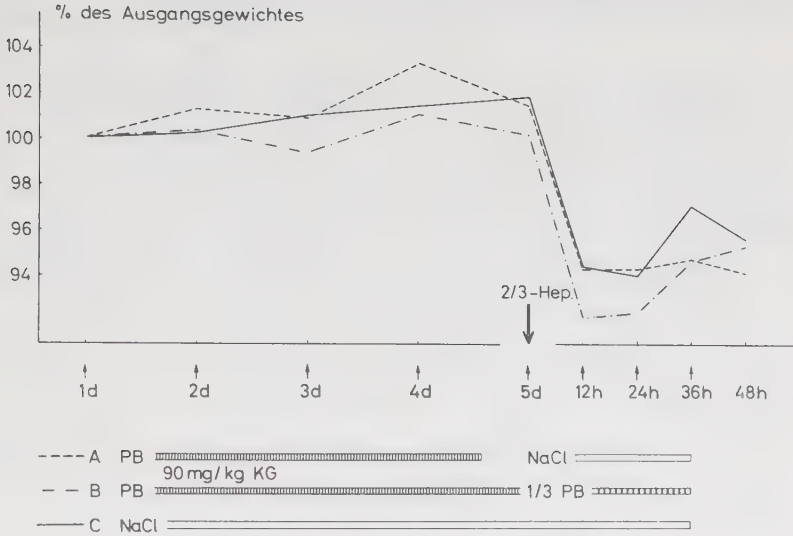


Abb. 3 : Verhalten der Tiergewichte während der Versuchszeit

Gruppe A : Präop. Applikation von PB

Gruppe B : Prä- und postop. Applikation von PB

Gruppe C : Kontrollgruppe

Diskussion

1. Der ^3H - TdR - Markierungsindex nach partieller Resektion der Leber und Applikation von Phenobarbital.

Die Applikation von PB bewirkt eine vorübergehend erhöhte Synchronisation des initialen DNS - Synthesebeginns nach Teilhepatektomie. Aus der Tatsache, daß der Anteil DNS - synthetisierender Hepatocyten in den Gruppen A und B nach 22 - stündiger Regenerationszeit im Vergleich zur Kontrollgruppe C wesentlich höher ist, folgt, daß die durch PB induzierte Mehrbelastung in der G_1 - Phase des Zellzyklus mit einem verstärkten Zellfluß in das S - Kompartiment beantwortet wird, ohne daß eine zeitliche Verschiebung des Synthesemaximums eintritt. Der schmale, hohe Peak der Gruppen A und B 22 h nach Teilhepatektomie ist als Ausdruck dieser verstärkten Synchronisation zu verstehen. Die planimetrische Auswertung der graphischen Darstellungen von A, B und C beweist, daß bei den Gruppen A und B lediglich die Synchronie des Eintrittes in die S-Phase erhöht ist, da die Flächen unter den entsprechenden Kurven nahezu identisch sind. Wird die planimetrische Fläche der Kontrollgruppe C gleich 100 % gesetzt, so ergibt sich bei den Tieren der Gruppe A, die loh vor der Operation die letzte PB - Dosis erhalten hatten, ein um 9% höherer Wert. Bei der auch postoperativ mit PB stimulierten Gruppe B ist er um 7% verkleinert. Diese Reduzierung scheint einer Proliferationshemmung durch die zu-

sätzlich gesteigerte funktionelle Belastung aufgrund der fortgesetzten Behandlung mit PB zuzuschreiben zu sein. Die sich bei Gruppe A ^{im Vergleich} zur Kontrollgruppe C ergebende Differenz läßt auf eine geringgradige, zusätzliche Zellstimulation schließen, die aber im ^{Hinblick auf die} Vergleich zu der nachgewiesenen erhöhten Synchronisation von untergeordneter Bedeutung ist. Daraus ergibt sich, daß bei der Beurteilung proliferationspezifischer Prozesse streng zwischen Zell-synchronisation und Zellstimulation zu unterscheiden ist. In einem diesem Versuch ähnlichen Experiment, bei dem nach 2 - tägiger Applikation von PB bei 260 - 377 g schweren Ratten der ^3H - TdR - Markierungsindex 16h, 24 h, und 39h nach der Zweidrittel - Hepatektomie bestimmt wurde, stellte Rüttimann (1972) eine Erhöhung des Markierungsindex fest, ^{die} ~~der~~ ebenfalls auf Synchronisationsprozesse zurückzuführen sein könnte. Inwieweit eine Zellstimulation in Betracht gezogen werden könnte, läßt sich im Versuch Rüttimanns nicht klar entscheiden. Hierzu wäre eine genaue zeitkinetische Untersuchung des gesamten initialen Regenerationsverlaufes nötig.

Wird die partielle Hepatektomie kombiniert mit der Gabe einer Substanz wie PB, das in der Leber die Synthese mikrosomaler Enzyme induziert, so sind die Hepatocyten des Restparenchyms zwei verschiedenen Stimuli ausgesetzt, die einzeln angewandt, verschiedenartige Antworten hervorrufen (Bürki et al., 1971).

Hilton und Sartorelli (1970) berichteten von einer ungefähr 24 - stündigen Verzögerung der Induktion mikrosomaler Enzyme,

wenn die partielle Resektion der Leber unmittelbar vor oder nach der Applikation von PB durchgeführt wurde. Nach Untersuchungen von Bürki et al. (1971) resultiert die einmalige Verabreichung einer hohen Dosis PB in einer ca. 2 - stündigen Verzögerung des Beginns der DNS - Synthese. Aus den eigenen Untersuchungen geht hervor, daß nach fünf- und mehrmaliger Gabe von PB die Zellproliferation in der regenerierenden Leber nicht verzögert wird. Daraus ergibt sich, daß bei einem umfangreichen Parenchymverlust und gleichzeitiger erhöhter funktioneller Belastung des Leberrestes durch PB die Metabolisierungsprozesse sehr wahrscheinlich zugunsten einer in dieser Situation vorrangigen Zellhyperplasie eingeschränkt werden (Hilton und Sartorelli, 1970). Japundžić et al. (1967) fanden nach Vorbehandlung mit PB mehrere Tage vor der Teilresektion einen Anstieg der Mitosenzahl ⁱⁿ der Rattenleber. Eine derartige Steigerung der proliferativen Antwort könnte als Folge einer präexistierenden, PB - bedingten Zellhypertrophie mit gesteigerter Synthese mikrosomaler Enzyme erklärt werden. Dies ist auch für die vorliegenden Experimente anzunehmen, weil hier der gesamte für die Entgiftung von PB maßgebende Enzymapparat ebenfalls mehrere Tage vor der partiellen Resektion stimuliert wurde. Die so bereitgestellten Enzyme würden demnach zu einer beschleunigten Metabolisierung von PB beitragen, so daß zum Zeitpunkt der Operation die Fähigkeit, PB zu entgiften, nicht erst erworben werden muß^a, sondern bereits vorhanden ^{wäre} ist. Der im Vergleich zur Gruppe A niedrigere maximale ³H - TdR - Markierungsindex der Gruppe B, der auch nach der Teilresektion

PB injiziert wurde, läßt vermuten, daß die postoperative Applikation von PB eine zusätzliche Erhöhung der funktionellen Belastung des regenerierenden Leberparenchyms darstellt. Dennoch trat auch hier keine Verzögerung des Proliferationsbeginns ein.

Die nach 30 - 36 - stündiger Regenerationszeit bei allen drei Gruppen abgesunkenen ^3H - TdR - Markierungsindices deuten an, daß in der frühen Phase der Regeneration in der Leber dem Proliferationsstoffwechsel bis zum Ausgleich des akuten Gewebsverlustes der Vorzug gegeben ist, während im weiteren Verlauf die regulären metabolischen Funktionen des Organs wieder stärker in den Vordergrund treten.

2. Der Mitoseindex nach partieller Resektion der Leber und Applikation von Phenobarbital

Da die Mitosephase in der Leber etwa 2h dauert (Looney, 1960; Looney et al., 1960; Edwards und Koch, 1964; Rabes et al., 1972), ist eine Aussage über den genauen Verlauf der Mitosekurve nur bei der Wahl von 1 - bis 2 - stündigen Untersuchungszeitpunkten zu machen. Mit der vorliegenden experimentellen Wahl von 6 Std.-Intervallen konnte das wirkliche Verhalten der Mitosekurve daher nicht exakt bestimmt werden.

Die höchste Mitoseaktivität fand sich bei allen drei Gruppen ungefähr 30h nach der Operation und folgte damit dem Maximum der DNS - Synthese mit einer 6 - bis 8 - stündigen Ver-

zögerung. Dies stimmt gut mit den früheren, in der Literatur berichteten Ergebnissen von anderen Untersuchungssystemen überein (Cater et al., 1956; Weinbren, 1959; Grisham, 1962; Bucher, 1967; Fabrikant, 1968) und läßt den Schluß zu, daß die Dauer der G_2 - Phase durch FB - Applikation wahrscheinlich nicht verändert wird.

3. Der 3H - TdR - Markierungs- und Mitoseindex in der nicht partiell resezierten Leber nach Applikation von Phenobarbital

Die Behandlung mit PB ohne partielle Hepatektomie bewirkte nur eine geringe Zunahme des Markierungs- und Mitoseindex. Die nur mit NaCl - Lösung behandelten Tiere wiesen den in der Literatur beschriebenen Markierungsindex auf (Oehlert et al., 1962; Stöcker et al., 1964). Ihr Mitoseindex stimmte gut mit den Werten früherer Untersuchungen überein (Hemingway und Cater, 1958; Grisham, 1962; Stöcker et al., 1964).

Teil II

Die intralobuläre Lokalisation ^3H - TdR - markierter Hepatocytenkerne 22h nach partieller Resektion der Leber bei PB-behandelten Ratten

Da die vorausgehende Bestimmung der ^3H - TdR - Markierungsindices besonders 22h nach partieller Hepatektomie für die Versuchsgruppen A und B im Vergleich mit der Kontrollgruppe C deutliche Unterschiede in der Zahl DNC - synthetisierender Hepatocyten erkennen ließ, wurde im folgenden Teil dieser Arbeit die intralobuläre Lokalisation ^3H - TdR - markierter Leberzellen für diesen Zeitpunkt untersucht. Dabei sollte festgestellt werden, ob sich im Funktions- und Proliferationsstoffwechsel eine Aufgabenteilung zwischen den einzelnen Leberparenchymzellen in Bezug auf ihre Lage innerhalb des Lobulus ergibt.

Einleitung

Berücksichtigt man nach partieller Hepatektomie die Topik der regenerierenden Leberzellen, d.h. deren Lage innerhalb des Leberlobulus, so sind erhebliche zonale Unterschiede im Regenerationsmuster zu beobachten (Grisham, 1962; Cehlert et al., 1962; Steiner et al., 1966; Rabes und Tuczczek, 1970). Histochemische (Schumacher, 1957; Wachstein, 1963), mikrochemische (Shank et al., 1959; Morrison et al., 1965;

Morrison und Brock, 1967), autoradiographische (Stembridge et al., 1953; Leblond et al., 1957; Kodicek, 1960) und immunfluoreszenzmikroskopische Untersuchungen (Barnhart, 1960; Hamashima et al., 1964; Hamashima, 1966) haben gezeigt, daß zwischen den Hepatocyten metabolische Unterschiede in Bezug auf ihre Lage zu afferenten und efferenten Blutgefäßen existieren.

Quantitative autoradiographische Untersuchungen ergaben, daß nach 18 - stündiger Regenerationszeit mehr als 80% der DNS - synthetisierenden Parenchymzellen im peripheren Drittel, 15% im intermediären und der Rest im zentralen Drittel des Leberläppchens zu finden sind (Grisham, 1962; Fabrikant, 1968). Eine weitere Unterteilung der Lobuli in noch kleinere Areale machte deutlich, daß die Zone maximaler DNS - Synthese 20h post op. zwar im lobuloperipheren Abschnitt liegt, dabei jedoch nicht unmittelbar an das Portalfeld angrenzt (Rabes und Tuzek, 1967; 1968; 1970).

Versuchsanordnung

I. Tiermaterial

Für die Untersuchung der Zelltopik wurden die histologischen Präparate der Tiergruppen A, B und C des vorhergehenden Versuches verwendet.

II. Auswertung der Autoradiogramme

Bei 625 - facher Vergrößerung wurden mit Hilfe eines Okularzählrasters flächengleiche Quadrate der Kantenlänge 42,6 μm in das Gesichtsfeld projiziert. Die Gesamtbreite der ausgewerteten Fläche betrug 127,8 μm (3 Rasterquadrate), die Länge je nach Abstand Vena centralis — Glisson'sches Feld 383,4 μm bzw. 426,0 μm (9 - 10 Rasterquadrate). Die Auswertung begann am Rand der V. centralis und endete am Beginn des Glisson'schen Feldes. Von jedem der 4 bzw. 5 Tiere einer Versuchsgruppe wurden 25 bzw. 20 Leber^{zell}bälkchen der beiden Längen zufällig ausgewählt, so daß 2 Untersuchungsgruppen von je 4 x 25 bzw. 5 x 20 Leber^{zelle}bälkchen statistisch ausgewertet werden konnten. Für jede einzelne intralobuläre Zone wurde der ^3H - TdR - Markierungsindex bestimmt und der mittlere Fehler des Mittelwertes errechnet, wie auf S. 11 angegeben.

Ergebnisse und Diskussion

22h nach partieller Hepatektomie ließ sich bei allen drei Versuchsgruppen eine charakteristische intralobuläre Verteilung ^3H - TdR - markierter Hepatocytenkerne nachweisen. Von der lobuloperipher gelegenen Zone maximaler Markierungsdichte, die nicht unmittelbar an das Portalfeld angrenzte, fiel der Prozentsatz DNS - synthetisierender Leberzellen in Richtung auf die Zentralvene nahezu linear ab. In dem schmalen Randsaum rund um das Glisson'sche Feld war er re-

duziert. Dies stimmt mit den Befunden von Rabes und Tuczek (1967; 1968; 1970) gut überein.

Bei den mit PB behandelten Gruppen A und B fand der Übertritt in das Kompartiment DNS - synthetisierender Hepatocyten ebenfalls in der auch bei den Kontrollen begünstigten lobuloperipheren Zone statt, war jedoch in diesem Bereich im Vergleich zur Kontrollgruppe C auf etwa das Doppelte erhöht.

Da der Neueintritt in die S - Phase bei den Gruppen A und B in Richtung auf die Vena centralis zunehmend seltener erfolgte, fiel der Markierungsindex insgesamt steiler ab. Zwischen den Lobuli verschiedener Größen bestand kein wesentlicher Unterschied in der Verteilung DNS - synthetisierender Hepatocyten.

In Abbildung 4 ist die intralobuläre Verteilung ^3H - TdR - markierter Hepatocytenkerne 22h nach der Zweidrittel-Hepatektomie zur Verdeutlichung der oben diskutierten Versuchsergebnisse graphisch dargestellt.

Das Verteilungsmuster ^3H - TdR - markierter Hepatocytenkerne 20h nach partieller Hepatektomie entsteht nach Untersuchungen von Tuczek und Rabes (1973) eher durch eine Zunahme der Markierungsdichte in prädisponierten Lobulusbezirken als durch eine selektiv peripher einsetzende Zellproliferation. Die Untersuchung nur derjenigen Lobuli, die 15h post op. mindestens einen markierten Hepatocyten enthielten, erbrachte den Nachweis, daß bereits zu diesem frühen Zeitpunkt auch intermediär und zentral einzelne Leberparenchymzellen in die DNS - Synthesephase eintreten (Rabes und Tuczek, 1970). Die

• Zonen höchster Markierungsdichte entsprechen in der regenerierenden Leber dabei weitgehend denjenigen der maximalen postnatalen Proliferation (Stöcker, 1968; Stöcker und Butter, 1968; Le Bouton und Marchand, 1970 a, b; Müller, 1970; Stöcker et al., 1972).

Für die charakteristische intralobuläre Verteilung werden außer dem Einfluß der Leberdurchblutung auch zelleigene Faktoren und die jeweilige funktionelle Situation des einzelnen Hepatocyten diskutiert. So weisen die Leberzellen je nach ihrer Lokalisation im Leberläppchen Unterschiede in ihren subzellulären Strukturen auf (Novikoff und Shin, 1964; Loud, 1966; 1968). Nach elektronenmikroskopischen Beobachtungen ist das Leberglykogen intralobulär zwar gleichmäßig verteilt, weist aber von Zelle zu Zelle große quantitative Unterschiede auf (Reith et al., 1968).

Für die Metabolisierungsprozesse verantwortliche Enzyme, wie die NADPH - Tetrazoliumreduktase, Naphtol - AS - D - Esterase, energieproduzierende Enzyme, wie die NADH - Tetrazoliumreduktase und hydroxylierende Enzyme finden sich vorwiegend im zentralen Bereich des Lobulus lokalisiert (Hardonk und Koudstaal, 1972). Autoradiographische Untersuchungen von Le Bouton (1968 a; 1969) über den Proteinmetabolismus der Rattenleber zeigten, daß die Zellen der Rappaport'schen Zone I (Rappaport, 1963) die höchste proteinmetabolisierende Aktivität aufweisen. Bereits nach 15min Verfügbarkeitszeit von ^3H - Leucin enthielt diese Zone mehr Radioaktivität, gemessen an der Silberkornbelegung, als die Rappaport'schen Zonen II und III.

Wilson und Hoagland (1967) stellten in Rattenleberpolysomen zwei Klassen von m - RNS bezüglich ihrer Halbwertszeiten fest. Etwa zwei Drittel der m - RNS hatten eine Halbwertszeit von 3h und ein Drittel eine Halbwertszeit von ungefähr 80 h. Nach Ausschaltung der kurzlebigen m - RNS mit Hilfe einer niedrigen Aktinomycin D - Dosierung erhielt Le Bouton (1968 b; 1971) in den Zellen der Rappaport'schen Zone I eine im Vergleich zu den beiden anderen Zonen beträchtlich höhere Radioaktivität. Sehr wahrscheinlich ist in dieser Zone I der Hauptteil der langlebigen m - RNS lokalisiert, die nach Wilson et al. (1967) vielleicht die Plasma - Albumin - Synthese kodiert. Es erscheint daher möglich, daß die Leberzellen der azinären Zone I für den Hauptteil der gesamten Plasma - Albumin - Synthese verantwortlich sein könnten (Madden und Whipple, 1940; Miller und Bale, 1954; Peters, 1962; Le Bouton, 1967; 1969).

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, daß die Population der Hepatocyten ^{sowohl} auf die funktionelle Stimulierung durch PB als auch auf die Stimulierung zur Zellproliferation durch die Zweidrittel - Hepatektomie mit einer verstärkten Synchronisation DNS - synthetisierender Parenchymzellen reagiert. Diese Erhöhung des Synchronisationsgrades ist von einer wirklichen Zellstimulierung streng zu unterscheiden. Die beschriebenen Synchronisationsprozesse finden vorwiegend in definierten intralobulären Zonen statt, die auch nach partieller Hepatektomie von nicht vorbehandelten Normal-Ratten die günstigsten Proliferationsbedingungen bieten. In dieser Versuchsanordnung scheint der Zellproliferation gegenüber der Reaktion auf die PB-Stimulierung der Vorzug gegeben zu sein.

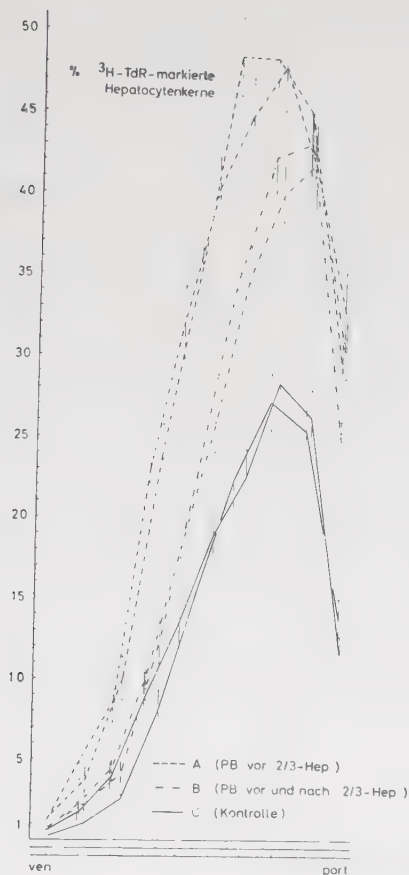


Abb. 4 : Intralobuläre Verteilung ^3H - TdR - markierter Hepatocytenkerne 22h nach Zweidrittel - Hepatektomie mit Angabe des mittleren Fehlers des Mittelwertes. Auswertung von jeweils 2 Lobuluspopulationen ($n = 100$) mit den Abständen Portalfeld - Zentralvene von $383,4 \mu\text{m}$ bzw. $426,0 \mu\text{m}$ (9 bzw. 10 Rasterquadrate). Mittelwerte von 4 - 5 Ratten.

Gruppe A : präop. Applikation von PB

Gruppe : : prä- und postop. Applikation von PB

Gruppe C : Kontrollgruppe

Zusammenfassung

Am Modell regenerierender Hepatocyten wird untersucht, ob eine Phenobarbital - (PB) - induzierte funktionelle Belastung in der G₀- bzw. G₁-Phase des Zellzyklus mit der Zellkinetik und der DNS-Synthese nach Zweidrittelresektion der Leber interferiert

Männliche Wistarratten von 277 $\pm$ 7g Gewicht wurden vier Versuchsgruppen A, B, C und D zugeteilt. Gruppe A erhielt an fünf aufeinanderfolgenden Tagen je 90mg PB/kg Körpergewicht i.p.. 10 h nach der letzten Injektion erfolgte die partielle Hepatektomie nach der Methode von Higgins und Anderson (1931). Gruppe B erhielt ebenfalls präoperativ PB. Die 5. PB-Applikation erfolgte jedoch unmittelbar nach der partiellen Resektion der Leber; weitere PB-Injektionen erfolgten während der Regenerationsphase in 12-stündigen Abständen. Die Dosis wurde nach Teilhepatektomie auf 30 mg/kg reduziert. Gruppe C diente als Kontrolle und erhielt äquivalente Volumina physiologischer NaCl-Lösung. Um die Wirkung von PB auf die nicht teilresezierte Leber zu untersuchen, wurde normalen Ratten der Gruppe D an fünf aufeinanderfolgenden Tagen die entsprechende Menge PB (bzw. deren Kontrolltieren die entsprechenden Volumina physiologischer NaCl-Lösung) injiziert. Diese Ratten wurden 24h nach der letzten Injektion getötet.

Zu verschiedenen Zeiten post operationem (12h, 18h, 22h, 26h, 30h, 36h, 42h und 48h) wurden der Markierungsindex 60 Minuten nach Injektion von ³H-TdR und der Mitoseindex bestimmt.

Markierungs- und Mitoseindex für die Gruppe D sind im Vergleich zu den Angaben der Literatur nur geringfügig erhöht.

Für die Gruppen A und B beträgt der Markierungsindex nach 22 - stündiger Regenerationszeit 36 bzw. 30%, während er in der Kontrollgruppe C nur 18,5% erreicht. Unter den vorliegenden experimentellen Bedingungen wird die PB - induzierte Mehrbelastung in der G_1 - Phase des Zellzyklus mit einem zeitlich gerafften Fluß in das Kompartiment DNS -synthetisierender Leberparenchymzellen beantwortet, ohne daß es zu einer zeitlichen Verschiebung des DNS - Synthesemaximums kommt. Der bei den Gruppen A und B erhöhte und schmale initiale Peak entspricht einer verstärkten Synchronisation des Übertrittes von Hepatocyten in die S - Phase. Wird die planimetrierte Kurvenfläche der Kontrollgruppe C gleich 100% gesetzt, so ergibt sich bei den Tieren der Gruppe A, die loh vor der Operation die letzte PB - Dosis erhalten hatte, ein um 9% vergrößerter Wert, während er bei der auch postoperativ mit PB stimulierten Gruppe B um 7% verkleinert ist. Während der Mehrbetrag von 9% bei Gruppe A auf eine zusätzliche geringe Zellstimulation schließen läßt, scheint die Reduzierung bei Gruppe B einer Proliferationshemmung durch die zusätzliche, gesteigerte funktionelle Belastung aufgrund der postoperativ fortgesetzten Behandlung mit PB zuzuschreiben zu sein.

Bei der Kontrollgruppe C läßt sich nach 22 - stündiger Regenerationszeit die in der Literatur beschriebene charakteristische intralobuläre Verteilung ^3H - TdR - markierter Hepatocytenkerne nachweisen. Von der lobuloperipher gelegenen Zone maximaler Markierungsdichte, die nicht unmittelbar an das Portalfeld angrenzt, fällt der Prozentsatz DNS -

synthetisierender Leberzellen in Richtung auf die Zentralvene nahezu linear ab.

Bei den mit PB behandelten Ratten der Gruppe A und B liegt ein ähnliches Verteilungsmuster der radioaktiven Markierung vor. Dem erhöhten Markierungsindex entspricht eine starke Zunahme der Markierungsdichte in den auch bei der Kontrollgruppe bevorzugten intralobulären Zonen optimaler Proliferationsbedingungen.

Als mögliche Ursachen der charakteristischen Topik proliferierender Parenchymzellen nach partieller Hepatektomie werden in Abhängigkeit von ihrer intralobulären Lokalisation Unterschiede der submikroskopischen Struktur, des Enzymsatzes und der nutritiven Versorgung diskutiert.

In dieser Versuchsanordnung scheint der Zellproliferation gegenüber der Reaktion auf die funktionelle Belastung durch die Stimulierung mit PB der Vorzug gegeben zu sein.

Literaturverzeichnis

- Atary, J.-G., Brodeur, J.: Studies on the mechanism of phenobarbital - induced protection against parathion in adult female rats. J. Pharmacol. exp. Ther. 169, 159 - 167 (1969)
- Barka, T., Popper, H.: Liver enlargement and drug toxicity. Medicine (Baltimore) 46, 103 - 117 (1967)
- Barnhart, M.I.: Cellular site for prothrombin synthesis. Am. J. Physiol. 199, 360 - 366 (1960)
- Baron, I., Tephly, T.R.: Further studies on the relationship of the stimulatory effect of phenobarbital and 3,4-benzpyrene on hepatic heme synthesis to their efforts on hepatic microsomal drug oxidations. Act. Biochem. Biophys. 139, 410 - 420 (1970)
- Bolender, R.P., Weibel, E.R.: A morphometric study of the removal of phenobarbital - induced membranes from hepatocytes after cessation of treatment. J. Cell Biol. 56 746 - 761 (1973)
- Bucher, N.L.R.: Experimental aspects of hepatic regeneration. New Engl. J. Med. 277, 686 - 696 (1967)
- Burchell, B., Dutton, G.J., Nemeth, A.M.: Development of phenobarbital sensitive control mechanisms for uridine diphosphate glucuronyltransferase activity in chick embryo liver. J. Cell Biol. 55, 448 (1972)
- Burger, P.C., Herdson, P. B.: Phenobarbital - induced fine structural changes in rat liver. Am. J. Path. 48, 793 - 810 (1966)

Bürki, K., Schaer, J.C., Grieder, A., Schindler, R.,
Dottier, H.: Studies on liver regeneration. I. ¹³¹I-Jodo-
deoxyuridine as a precursor of DNA in normal and rege-
nerating rat liver. Cell and tissue Kinetics 4, 519 -
527 (1971)

Cater, D.B., Holmes, B.E., Mee, L.K.: Cell division and
nucleic acid synthesis in the regenerating liver of the
rat. Acta radiol. 46, 655 - 667 (1956)

Chiesara, E., Clementi, F., Conti, F., Meldolesi, J.:
Induction of drug - metabolizing enzymes in rat liver
during growth and regeneration. A biochemical and ultra-
structural study. Lab. Invest. 16, 254 - 267 (1967)

Conney, A.H., Davison, C., Gastel, R., Burns, J.J.:
Adaptive increases in drug metabolizing enzymes induced
by phenobarbital and other drugs. J. Pharmacol. exp. Ther. 130, 1 - 8 (1960)

Conney, A.H., Michaelson, J.A., Burns, J.J.: Stimulatory
effect of chlorcyclizine on barbiturate metabolism.
J. Pharmacol. exp. Ther. 132, 202 - 206 (1961)

Conney, A.H., Gilman, A.G.: Puromycin inhibition of enzy-
me induction by 3 - methylcholanthrene and phenobarbi-
tal. J. Biol. Chem. 238, 3682 - 3685 (1963)

Edwards, J. L., Koch, A.: Parenchymal and littoral cell pro-
liferation during liver regeneration. Lab. Invest, 13,
32 - 43 (1964)

Ernster, L., Orrenius, S.: Substrate - induced synthesis
of the hydroxylating enzyme system of liver microsomes.
Fed. Proc. 24, 1190 - 1199 (1965)

Fabrikant, J.I.: Cell proliferation in the regenerating liver and the effect of prior continuous irradiation. Ph. D. Thesis. University of London, London 1964

Fabrikant, J.I.: The kinetics of cellular proliferation in regenerating liver. J. Cell Biol. 36, 551 - 565 (1968)

Fouts, J.R., Rogers, L.: Morphological changes in the liver accompanying stimulation of drug metabolizing enzyme activity by phenobarbital, chlordanes, benzpyrene or methylcholanthrene in rats. J. Pharmacol. exp. Ther. 147, 112 - 119 (1965)

Gelboin, H.V., Wortham, J.S., Wilson, R.G.: 3 -methylcholanthrene and phenobarbital stimulation of rat liver RNA-polymerase. Nature 214, 281 - 283 (1967)

Grisham, J.W.: A. morphologic study of deoxyribonucleic acid synthesis and cell proliferation in regenerating rat liver. Autoradiography with thymidine - H^3 . Cancer Res. 22, 842 - 849 (1962)

Hamashima, Y., Harter, J.G., Coons, A.: The localisation of albumin and fibrinogen in human liver cells. J. Cell Biol. 20, 271 - 279 (1964)

Hamashima, Y.: Cellular sites of albumin and fibrinogen in the human liver cells. In Protides of the Biological Fluids, ed. H. Peeters (Elsevier Publishing Co., Amsterdam, p. 245) (1966)

Hardonk, M.J., Koudstaal, J.: Enzyme histochemical investigations in rat liver after phenobarbital and methylcholanthrene treatment. Acta histochemica, Supp. Bd. XII, 273 - 278 (1972)

Hemingway, J.T., Cater, D.B.: Effects of pituitary hormones and cortisone upon the liver regeneration in hypophysectomized rat. *Nature* (London) 181, 1065 - 1066 (1968)

Higgins, J.M., Anderson, R.M.: Pathology of the liver of white rat following partial surgical removal. *Arch. Path.* 12, 186 - 202 (1931)

Hilton, J., Sartorelli, A.C.: Induction by phenobarbital of microsomal mixed oxidase enzymes in regenerating rat liver. *J. Biol. Chem.* 245, 4187 - 4192 (1970)

Holtzmann, J.L., Gillette, J.R.: The effect of phenobarbital on the turnover of microsomal phospholipid in male and female rats. *J. Biol. Chem.* 243, 3020 - 3028 (1968)

Hospador, M.A., Mathei, R.W.: Influence of age and diet on the induction of hexobarbital metabolizing enzymes in the mouse. *Proc. Soc. exp. Biol.* 128, 130 - 132 (1968)

Ignatius, A.: *Die Leber*, Franckh'sche Verlagshandlung, W. Keller u. Co. Stuttgart 1961

Japundžić, M. Knežević, B., Djordjević, Čamba, V., Japundžić, J.: The influence of phenobarbital - Na on the mitotic activity of parenchymal liver cells during rat liver regeneration. *Exp. Cell. Res.* 48, 163 - 167 (1967)

Jones, A.L., Armstrong, D.T.: Increased cholesterol biosynthesis following phenobarbital induced hypertrophy of agranular endoplasmic reticulum in liver. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 119, 1136 - 1139 (1965)

Jones, A.L., Fawcett, D.W.: Hypertrophy of the agranular endoplasmic reticulum in hamster liver induced by phenobarbital (with a review on the function of this organelle in the liver). *J. Histochem. Cytochem.* 14, 215 - 232 (1966)

- Kato, R. Loeb, L., Gelboin, H.V.: Increased sensitivity of microsomes from phenobarbital - treated rats to synthetic messenger RNA. Lack of effect on ribosomes. *Nature* 205, 668 - 669 (1965)
- Kato, R., Jondorf, W.R., Loeb, L.A., Ben, T., Gelboin, H.V.: Studies on the mechanisms of drug - induced microsomal enzyme activation. V. Phenobarbital stimulation of endogenous mRNA and polyuridylic acid - directed L - C¹⁴ - phenylalanine incorporation. *Mol. Pharmacol.* 2, 171 -186 (1966)
- Klaasseni, C. D.: Biliary flow after microsomal enzyme induction. *J. Pharmacol. exp. Ther.* 168, 218 - 223 (1969)
- Kodicek, E.: The metabolism of vitamin D. *Prov. 4th Intern Congress Biochem. (Vienna)*, ed^d. E. Umbreit und H. Mollitor (Pergamon Press, London) 11, 198 (1960)
- Kunz, W., Schaude, G., Schmid, W., Siess, M.: Lebervergrößerung durch Fremdstoffe. *Naunyn - Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path.* 254, 470 - 488 (1966 a)
- Kunz, W., Schaude, G., Schmid, W., Siess, M.: Stimulation of liver growth by drugs. I. Morphological analysis. *Proc. Eur. Soc. Study Drug Toxicity* 2, 113 - 137 (1966 b)
- Kunz, W., Schaude, G., Schimassek, H., Schmid, W., Siess, M.: Stimulation of liver growth by drugs. II. Biochemical analysis. *Proc. Eur. Soc. Study Drug Toxicity* 2, 138 - 153 (1966 c)
- Kuriyama, Y., Omura, T., Siekevitz, P., Palade, G.E.: Effects of phenobarbital on the synthesis and degradation of the protein components of rat liver microsomal membranes. *J. Biol. Chem.* 244, 2017 - 2026 (1969)

Leblond, C.P., Everett, N.B., Simmons, S.B.: Sites of protein synthesis as shown by radioautography after administration of S^{35} - labelled methionine. Am. J. Anat. 101, 225 (1957)

Le~~o~~ Bouton, A.V.: Radioautographic evidence for a zone of increased protein metabolism in the rat liver. Anat. Rec. 160, 276 - 277 (1967)

Le Bouton, A.V.: Heterogeneity of protein metabolism between liver cells as studied by radioautography. Currents in modern Biol. 2, 111 - 114 (1968 a)

Le Bouton, A.V.: Zonal protein synthesis in rat Liver containing primarily stable messenger RNA. Anat. Rec. 160, 383 (1968b)

Le Bouton, A.V.: Relations and extend of the zone of intensified protein metabolism in the liver acinus. Currents in modern Biol. 3, 4 - 8 (1969)

Le Bouton, A.V.: Protein synthesis in the rat liver acinus after injection of actinomycin D: A radioautographic study. Currents in modern Biol. 3, 353 - 358 (1971)

Le Bouton, A.V., Marchand, R.: Changes in the distribution of thymidine - 3H labeled cells in the growing liver acinus of neonatal rats. Develop. Biol. 23, 524 - 533 (1970a)

Le Bouton, A.V., Marchand, R.: Distribution of DNA synthetic cells in the liver acinus of neonatal rats. Anat. Rec. 166, 336 (1970b)

Looney, W.B.: The replication of deoxyribonucleic acid hepatocytes. Proc. nat. Acad. Sci. 46, 690 - 698 (1960)

- Looney, W.B., Campbell, R.C., Holmes, B.E.: The effect of irradiation on the replication of deoxyribonucleic acid in hepatocytes. *Proc. nat. Acad. Sci.* 46, 698 - 708 (1960)
- Loud, A.V.: Quantitative electron microscopy of the rat liver lobule. *J. Cell Biol.* 31, 69 (1966)
- Loud, A.V.: Description of the ultrastructure of normal rat liver parenchymal cells. *J. Cell Biol.* 37, 27 - 46 (1968)
- Lu, A.M. H., Jacobsen, M., Levin, Y.H.W., West, S.B., Kuntzman, R.: Reconstituted liver microsomal enzyme system that hydroxylates drugs, other foreign compounds and endogenous substrates. IV. Hydroxylation of aniline. *Arch. Biochem. Biophys.* 153, 294 - 297 (1972)
- Lu, A.M.H., Levin, Y.H.W., Wesr, S.B., Jacobsen, M. Ryan, D., Kuntzisson, R., Lonney, A.H.: Reconstituted liver microsomal enzyme system that hydroxylates drugs, other foreign compounds and endogenous substrates. VI. Different substrate specificities of the cytochrome P₄₅₀ fractions from control and phenobarbital - treated rats. *J. Biol. Chem.* 248, 456 - 460 (1973)
- Madden, S.C., Whipple, G.H.: Plasma proteins: Their source, production and utilization. *Physiol. Rev.* 20, 194 - 217 (1940)
- Marver, H.J., Schmid, R., Hütgel, H.: Heme and methemoglobin: Naturally occurring repressors of microsomal cytochrome. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 33, 969 - 974 (1968)
- McLean, A.E.M., McLean, E.K.: The effect of diet and 1,1,1-trichloro - 2,2 - bis (p - chlorophenyl) ethane (DDT) on microsomal hydroxylating enzymes and on sensitivity of rats to carbon tetrachloride poisoning. *Biochem. J.* 100, 564 - 571 (1966)

- von Meister, V.: Recreation des Lebergewebes nach Abtragung ganzer Leberlappen. Beitr. path. Anat. 15, 1 - 116 (1894)
- Middleton, W.R.J., Isselbacher, K.J.: The stimulation of intestinal cholesterologenesis in the rat by phenobarbital. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 131, 1435 - 1437 (1969)
- Miller, L.L., Bale, W. F.: Synthesis of all plasma protein fractions except gamma globulins by the liver. J. Exp. Med. 99, 125 (1954)
- Morrison, G.R., Brock, F.E., Karl, I.E., Shank, R.E.: Quantitative analysis of regeneration and degenerating areas within the lobule of the carbon tetrachloride-injured liver. Arch. Biochem. Biophys. 111, 448 - 460 (1965)
- Morrison, G.R., Brock, F.E.: Quantitative measurement of alcohol dehydrogenase in the lobule of normal livers. J. Lab. Clin. Med. 70, 116 (1967)
- Müller, D.: Autoradiographische Untersuchungen zur Zellproliferation in der Rattenleber nach ^3H - Thymidin-Dauerinfusion. Verh. dtsch. Ges. Pathol. 54, 687 - 688 (1970)
- Novikoff, A.B., Shin, W. - Y.: The endoplasmic reticulum in the Golgi zone and its relations to microbodies, Golgi apparatus and autophagic vacuoles in rat liver cells. J. Microscopie 3, 187 - 206 (1964)
- Oehlert, W., Hämmerling, W., Bücher, F.: Der zeitliche Ablauf und das Ausmaß der DNS - Synthese in der regenerierenden Leber der Ratte nach Teilhepatektomie. Beitr. path. Anat. 126, 91 - 112 (1962)
- Orrenius, S., Ericsson, J.L.E., Ernster, L.: Phenobarbital-induced synthesis of the drug - metabolizing enzyme system and its relationship to the proliferation of endoplasmic membranes. J. Cell Biol. 25, 627 - 639 (1965)

- Orrenius, S., Ericsson, J.L.E.: Enzyme - membrane relationship in phenobarbital induction of synthesis of drug metabolizing enzyme system and proliferation of endoplasmic membranes. J. Cell Biol. 28, 181 - 198 (1966)
- Paulini, K., Beneke, G.: Untersuchungen zur Lebervergrößerung durch Phenobarbital. Ver. Dtsch. Ges.Path. 54, 518 - 523 (1970a)
- Paulini, K., Beneke, G., Kulka, R.: Lebervergrößerung durch Phenobarbital in Abhängigkeit vom Lebensalter. Beitr. Path. 141, 327 - 348 (1970b)
- Paulini, K., Beneke, G.: Lebervergrößerung bei erhöhter funktioneller Belastung in verschiedenen Lebensaltern. Aktuelle Gerontologie 1, 389 - 396 (1970c)
- Paulini, K., Grimm, K., Beneke, G.: Die Anwendbarkeit der "Critical Mass" - Theorie für die phenobarbitalinduzierte Lebervergrößerung. Beitr. Path. 142, 129 - 136 (1971a)
- Paulini, K., Beneke, G., Kulka, R.: Der Mechanismus der Lebervergrößerung nach verschieden hoher Phenobarbitaldosis. Beitr. Path. 143, 283 - 294 (1971 b)
- Paulini, K., Beneke, G., Kulka, R.: Zytometrische Untersuchungen zur Lebervergrößerung nach Phenobarbital in Abhängigkeit vom Lebensalter. Beitr. Path. 144, 319 - 326 (1971c)
- Paulini, K., Schriefers, H., Ockenfels, H., Beneke, G.: Proteinbestand und Aktivität mikrosomaler Enzyme der Leber von Ratten verschiedener Altersstufen unter der Behandlung mit Phenobarbital. Beitr. Path. 147, 366 - 378 (1972)

- Peters, R.: Die Mitosehäufigkeit in der Rattenleber in Abhängigkeit von der Tageszeit, dem Gewicht der Tiere und der Ernährung. Z. f. Naturforsch. 17b, 164 - 168 (1962)
- Rabes, H.M., Tuczek, H.-V.: Topik der DNS - Synthese nach Teilhepatektomie. Naturwiss. 54, 229 - 230 (1967)
- Rabes, H.M., Tuczek, H.-V.: Topik der Leberregeneration nach Teilhepatektomie bei allylformiat vergifteten Ratten. Verh. dtsch. Ges. Pathol. 52, 449 - 453 (1968)
- Rabes, H.M., Tuczek, H.-V.: Quantitative autoradiographische Untersuchung zur Heterogenität der Leberzellproliferation nach partieller Hepatektomie. Virchows Arch. Abt. B Zellpath. 6, 302 - 312 (1970)
- Rabes, H.M., Wirsching, R., Tuczek, H.-V.: Dauer des Leberzellzyklus nach partieller Hepatektomie. Naturwiss. 59, 221 - 222 (1972)
- Reith, A., Schüler, B., Vogell, W.: Quantitative elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Struktur des Leberläppchens normaler Ratten. Z. Zellforsch. 89, 225 - 240 (1968)
- Rappaport, A.M.: Acinar units and the pathophysiology of the liver. in : The Liver (Ch. Rouiller, ed.) Academic Press New York and London Vol. I p. 265 - 328 (1963)
- Remmer, H.: Die Beschleunigung des Evipanabbaues unter der Wirkung von Barbituraten. Naturwiss. 45, 189 (1958)
- Remmer, H., Merker, H.J.: Drug - induced changes in the liver endoplasmic reticulum associated with drug - metabolizing enzymes. Science 142, 1657 - 1658 (1963)

- Rüttimann, G.: Effect of phenobarbital on hepatocyte proliferation in rats following partial hepatectomy. *Experientia* 28/10, 1196 - 1197 (1972)
- Schindler, R., Bürki, K.: Effects of phenobarbital on rat liver regeneration. *Experientia*, 27, 730 (1971)
- Schlicht, J., Koransky, W., Schulte -Hermann, R., Magour, S.: Zur Lebervergrößerung unter dem Einfluß von Pharmaka. *Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med.* 73, 251 - 255 (1967)
- Schlicht, J., Koransky, W., Magour, S., Schulte -Hermann, R.: Größe und DNS - Synthese der Leber unter dem Einfluß körperfremder Stoffe. *Naunyn,- Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path.* 261, 26 - 41 (1968)
- Schulte - Hermann, R., Thom, R., Schlicht, J., Koransky, W.: Zahl und Ploidiegrad der Zellkerne der Leber unter dem Einfluß körperfremder Stoffe. Analysen mit Hilfe eines elektronischen Partikelzählgerätes. *Naunyn - Schmiedebergs Arch. Pharmakol. exp. Path.* 261, 42 - 58 (1968)
- Schuhmacher, H.H.: Histochemical distribution pattern of respiratory enzymes in the liver lobule. *Science* 125, 501 - 503 (1957)
- Shank, R.E., Morrison, G., Cheng, C.H., Kari, I., Schwartz, R.: Cell heterogeneity within the hepatic lobule. *J. Histochem. Cytochem.* 7, 237 (1959)
- Smith, S.J., Hill, R. N., Gleeson, R.A., Vesell, E.S.: Evidence for posttranscriptional stabilization of ribosomal precursor RNA by phenobarbital, *Molec. Pharmacol.* 8, 691 - 700 (1972)
- Spratt, J.L.: Digitoxigenin metabolism by rat liver microsomes and its induction by phenobarbital. *Biochem. Pharmacol.* 22, 1669 - 1671 (1973)

- Stäubli, W., Hess, R., Weibel, E.R.: Correlated morphometric and biochemical studies on the liver cell. II. Effects of phenobarbital on rat hepatocytes. J. Cell Biol. 42 92 - 112 (1969)
- Steiner, J.W., Perz, Z.M., Taichman, L.B.: Cell population dynamics in the liver. A review of quantitative morphological techniques applied to the study of physiological and pathological growth. Exp. Molec. Path. 5, 146 - 181 (1966)
- Stembridge, V.A., Knisely, R.M., Gibbs, W.: Autoradiographic distribution of intravenous gold (Au^{198}) in the rat. Lab. Invest. 2, 349 (1953)
- Stenger, R.J., Miller, R.A., Williamson, J.W.: Effects of phenobarbital pretreatment of carbon tetrachloride. Exp. Mol. Pathol. 13, 242 - 252 (1970)
- Stenger, R.J., Johnson, E.A.: Further observations upon the effect of phenobarbital pretreatment on the hepatotoxicity of carbon tetrachloride, Exp. Mol. Pathol. 14, 220-227 (1971)
- Stenger, R.J., Johnson, E.A.: Effects of phenobarbital pretreatment on the response of rat liver to halothane administration. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 140, 1319 - 1324 (1972)
- Stöcker, E., Teubner, E., Rosenbusch, S.: Die DNS - Synthese als Funktion des Alters in Leber und Niere der Ratte. Verh. dtsh. Ges. Path. 48m 295 - 299 (1964)
- Stöcker, E.: Der Proliferationsmodus in Niere und Leber. Verh. dtsh. Ges. Pathol. 50, 53 - 74 (1966)
- Stöcker, E.: Growth and regeneration in parenchymatous organs of the rat. 2nd Meeting of the Europ. Study Group for Cell. Prolif. Abstr. Papers, p 80 - 82 (1968)

Stöcker, E., Butter, D.: Die DNS - Synthese in der Leber, und Niere junger Ratten. Autoradiographische Untersuchungen mit ^3H - Thymidin. *Experientia* 24, 704 - 705 (1968)

Stöcker, E., Schultze, B., Heine, W.-D., Liebscher, H.: Wachstum und Regeneration in parenchymatösen Organen der Ratte. Autoradiographische Untersuchung mit ^3H - Thymidin. *Z. Zellforsch.* 125, 306 - 331 (1972)

Talcott, R.E., Stohs, S.J.: Effects of PCN and phenobarbital on ^3H - Digitoxigenin and ^3H - Digoxigenin metabolism by rat liver. *Res. Commun. in Chem. Pathol. and Pharmacol.* 5, 663 - 672 (1973)

Thomas, F.B., Baba, N., Greenberger, N.J., Salsburey, D.: Effects of phenobarbital on small intestinal structure and function in the rat. *The J. of Lab. and Clin. Med.* 80, 548 - 558 (1972)

Tuczek, H.- V., Rabes, H.M.: Autoradiographische und biochemische Untersuchungen zum Übertritt der Hepatocyten von der G_1 in die S - Phase nach partieller Hepatektomie. Beziehungen zwischen Zellfluß, spezifischer Aktivität der DNA und Radioaktivität des niedermolekularen Pools nach ^3H - Thymidinmarkierung. *Z. Zellforsch.* 1973 142, 399 - 408 (1973)

Wachstein, M.: Cyto - and histochemistry of the liver. *The Liver*, ed.V. Rouiller (Academic Press, New York) 1, 137 (1963)

Weinbren, K.: Regeneration of the liver. *Gastroenterology* 37, 657 - 668 (1959)

Wilson, S.H., Hoagland, M.B.: Physiology of the rat liver polysomes. The stability of messenger ribonucleic acid and ribosomes. *Biochem. J.* 103, 556 - 566 (1967)

Wilson, S.H., Hill, H.Z., Hoagland, M.B.: Physiology of rat liver polysomes. Proteinsynthesis by stable polysomes. Biochem. J. 103, 567 - 572 (1967)

Windorfer, : Gefahren und Möglichkeiten von enzymstimulierenden Medikamenten im Neugeborenen - Säuglingsalter. Pädiatrie und Pädologie 7, 246 - 252 (1972)

Zeidenberg, P., Orrenius, S., Ernster, L.: Increase in levels of glucuronylating enzymes and associated rise in activities of mitochondrial oxidative enzymes upon phenobarbital administration in the rat. J. Cell Biol. 32, 528 - 531 (1967)

L e b e n s l a u f

Am 21. 6. 1949 wurde ich als Sohn des Sparkassenange-
stellten Josef Skoruppa und seiner Ehefrau Edeltraud,
geb. Weinberger, in Kötzing geboren.

Nach Beendigung der 5. Klasse der Volksschule in
Moosburg trat ich 1960 in das Dom - Gymnasium in
Freising ein. Dort legte ich 1969 die Reifeprüfung ab.
Im Wintersemester 1969/70 begann ich das Medizinstu-
dium an der Ludwig - Maximilians - Universität in
München, wo ich im April 1972 die ärztliche Vorprüfung
bestand.

Im Dez. 1975 legte ich das medizinische Staatsexamen ab.

